UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1951-1952 — N° 367

LE RÉACTIF HYDROSTRYCHNIQUE VIS-A-VIS DES OXYDANTS ET DE LA FONCTION ALDÉHYDIQUE

Travail du Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène appliquée
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
(Professeur R. CASTAGNOU)

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 30 Juillet 1952

PAR

Paul-Maurice PAUL

Né à Aixe-sur-Vienne (Haute-Vienne), le 24 Avril 1927.

Examinateurs de la Thèse :

MM. CASTAGNOU, professeur ..... *Président*
CREYX, professeur ..... *Juges*
CAZAUX, maître de conférences agrégé ..... *Juges*
GOLSE (René), maître de conférences agrégé . *Juges*

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1952

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1951-1952 — N° 367

LE RÉACTIF HYDROSTRYCHNIQUE VIS-A-VIS DES OXYDANTS ET DE LA FONCTION ALDÉHYDIQUE

Travail du Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène appliquée
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux

(Professeur R. CASTAGNOU)

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 30 Juillet 1952

PAR

Paul-Maurice PAUL

Né à Aixe-sur-Vienne (Haute-Vienne), le 24 Avril 1927.

Examinateurs de la Thèse

MM. CASTAGNOU, professeur	*Président*
CREYX, professeur	*Juges*
CAZAUX, maître de conférences agrégé	*Juges*
GOLSE (René), maître de conférences agrégé	*Juges*

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1952

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE.
DOYEN : M. PORTMANN. — **ASSESSEUR** : M. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, LABAT, CHARRIER, DUBREUIL, MACHEBŒUF, CRUCHET.

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	N... / CREYX
Clinique chirurgicale	PAPIN / MASSÉ
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE
Clinique gynécologique	MAGENDIE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY
Anatomie	N...
Anatomie générale et histologie	MAYER
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIÉCHAUD
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLÉE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	REBOUL
Chimie	MESNARD
Matière médicale	GOLSE
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN
Zoologie et parasitologie	SIGALAS

	MM.
Médecine expérimentale	N...
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	N...
Clinique des maladies infectieuses	AUBERTIN
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie	GIRARD
Thérapeutique	BROUSTET

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. PERRENS (Maladies mentales), DUFOUR (Anatomie), BLANQUET (Physique pharmaceutique).

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Parasitologie	PAUTRIZEL
Physiologie	Mlle ROUGIER
Bactériologie	MOUSTARDIER

	MM.
Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE
Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER
Pharmacie (3e Section)	CAZAUX

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	SARIC / DUBARRY / F.-J. TRAISSAC / BERGOUIGNAN / LENG-LÉVY / POUYANNE
Chirurgie générale	LAUMONIER / CHAVANNAZ
Obstétrique	MAHON / CHASTRUSSE

	MM.
Ophtalmologie	BESSIÈRE
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Pédiatrie et puériculture	VERGER
Médecine légale et médecine du travail	L'ÉPÉE
Electro-radiologie	LACHAPÈLE
Odonto-stomatologie	MARONNEAUD
Urologie	LANGE

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	DUFOUR
Accouchements	CHASTRUSSE
Puériculture	VERGER / PÉRY
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI / COUSTOU
Anatomie	RIGAUD
Chimie minérale	R. GOLSE
Cryptogamie	LAUBIE

	MM.
Pharmacie galénique	MESNARD
Organographie et physiologie végétale	TEMPÈRE
Chimie biologique	NEUZIL
Chimie analytique	BABIN
Hygiène appliquée	QUILICHINI
Pathologie chirurgicale	LAUMONIER / VILLAR
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Hydrologie pharmaceutique	CAZAUX

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

LE RÉACTIF HYDROSTRYCHNIQUE VIS-A-VIS DES OXYDANTS ET DE LA FONCTION ALDÉHYDIQUE

INTRODUCTION

GÉNÉRALITÉS

En 1909, MALAQUIN décrivit une réaction nouvelle de la strychnine, pour l'appréciation de laquelle il convient de rappeler textuellement le mode opératoire qu'il a fixé :

« N'opérer que sur des solutions très étendues dont la teneur maxima ne devra jamais être supérieure à 1/1.000e.

« Introduire dans un tube à essai :

« — 1 ml. de solution contenant un sel de strychnine;

« — 1 ml. de ClH chimiquement pur.

« On agite et on ajoute :

« — 1 g. de zinc chimiquement pur.

« (Ce zinc doit être décapé avec NO_3H pur, puis rincé une ou deux fois avec de l'eau distillée.)

« Laisser réagir à froid pendant deux ou quatre minutes, porter ensuite rapidement à l'ébullition et, finalement, refroidir sous l'eau. D'autre part, dans le fond d'un tube à essai bien sec, on dépose, à l'aide d'une pipette, 2 ml. de SO_4H_2 *pur et concentré*. On verse alors sur cet acide la liqueur précédente décantée, mais avec précaution, de façon à ne pas mélanger les liquides.

« Si la solution à examiner contient de la strychnine

(comme c'est ici le cas), il se forme, au niveau de la ligne de séparation des deux liquides, un anneau rose, visible sur fond blanc ou sur verre dépoli, en regardant par transparence. Cet anneau apparaît soit immédiatement, soit au bout de quelques minutes et, avec le temps, va en s'apaississant jusqu'à occuper tout le volume du liquide. On porte alors pendant quelques secondes à l'ébullition.

« Pour opérer plus rapidement et obtenir une réaction immédiate, il suffit d'agiter le tube avec précaution pour effectuer le mélange : la teinte rose envahit alors le liquide et augmente encore d'intensité pendant quelques instants. On chauffe ensuite comme il est dit ci-dessus. »

Denigès reprit cette étude et publia ses premiers résultats dès 1911. Il montra que, malgré la précision de la description, cette méthode s'avérait parfois décevante, et en donna la raison essentielle : la présence obligatoire de dérivés nitreux ou nitriques provenant d'un lavage insuffisant du zinc décapé à NO_3H.

Il admit que, lors de l'hydruration de la strychnine par le couple $Zn\text{-}SO_4H_2$, il se formait les deux corps isolés par Tafel et Nauman au cours de la réduction électrolytique de cet alcaloïde : la tétrahydrostrychnine et son anhydride interne : la strychnidine. Or, ces corps sont attaqués par les oxydants en donnant une matière colorante rouge de même caractère organoleptique que celle obtenue dans la réaction de Malaquin.

Il montra, en outre :

— la manière d'opérer avec un zinc très pur qui hydrure la strychnine bien plus rapidement que le zinc commercial;

— le rôle des impuretés de ce dernier qui réduisent les traces de nitrates résiduels et indispensables en sels ammoniacaux;

— l'inutilité de compter sur ce nitrate résiduel lorsqu'on additionne le tout d'une solution diluée d'un nitrate alcalin;

— la possibilité de supprimer l'acide sulfurique en substituant l'ion nitreux à l'ion nitrique;

— enfin, la possibilité de remplacer le zinc chimiquement pur par du zinc commercial amalgamé.

En se basant sur ces nouvelles données, DENIGÈS établit la technique suivante que nous reproduisons ci-dessous :

« Introduire dans un tube à essai 4 ml. de solution de strychnine; ajouter 4 ml. d'acide chlorhydrique pur et 2 à 3 g. de petites lamelles de zinc amalgamé. Faire bouillir et abandonner le mélange pendant trois à quatre minutes. Décanter et faire refroidir.

« A 2 ml. de ce liquide versés dans un tube à essai, on ajoute une goutte d'une solution au 1/1.000e de NO_2Na et on agite : il se développe aussitôt une teinte rouge présentant, quand elle est suffisamment intense, deux bandes d'absorption dans la région vert-bleu du spectre. On obtient encore une teinte appréciable avec 3 ou 4 millièmes de milligramme de strychnine par millilitre de la prise d'essai.

« Dans un second tube, on met 1 ml. de SO_4H_2 pur, 1 goutte d'une solution à 1/1.000e de NO_3Na et on verse avec précaution 1 ml. de liquide hydrostrychnique. En agitant, il se développe une coloration rouge présentant les mêmes caractères spectroscopiques que la précédente, mais avec une nuance plus rosée parce qu'elle n'est pas accompagnée d'une trace de nitrosamine jaune comme dans le cas de NO_2H.

« La sensibilité est ici un peu moindre, sa limite est de 5/1.000e par millilitre. »

La méthode ayant été parfaitement mise au point pour la strychnine, DENIGÈS, après l'avoir adaptée à la diagnose du brome, l'appliqua dès la même année à la « Recherche rapide des nitrates et nitrites dans les eaux » selon la technique aujourd'hui si classique.

Il montra qu'on pouvait doser successivement les nitrites en l'absence de SO_4H_2, les nitrates après addition d'un volume important de cet acide. Ce travail fut repris en 1914.

L'année suivante, il poursuivit l'étude qualitative du réactif. Ce dernier, en effet, ne se conserve pas; dans les

heures qui suivent sa préparation, il se forme dans son sein de longues aiguilles surnageant « formant un feutrage blanc ». Denigès montra qu'il s'agissait, non d'un des dérivés hydrogénés de la strychnine, mais tout simplement de chlorhydrate de cet alcaloïde. Il prouva, en effet, que ce chlorhydrate provenait de la double décomposition de la strychnine non hydrogénée avec l'ion chlore du chlorure de zinc (mais il le considère aussi parfois comme étant un chlorozincate).

En 1941, il signale en outre que, pour éviter les deux inconvénients majeurs de son altération :

— rosissement à l'air par oxydation,

— et précipitation du chlorozincate de strychnine,

il y avait intérêt à effectuer l'hydrogénation en milieu acide mixte, chlorhydrique et sulfurique. Cette addition sulfurique évite la précipitation du chlorozincate et entraîne l'inutilité du chauffage nécessaire au démarrage de la réaction. Il recommande en outre de plonger une lame d'étain pendant un temps suffisant pour faire disparaître le rosissement du réactif.

CHAPITRE PREMIER

LE RÉACTIF HYDROSTRYCHNIQUE : COURBE DE NEUTRALISATION ÉTUDE CHROMATOGRAPHIQUE

Nous avons poursuivi l'étude de ce réactif par l'essai d'identification des dérivés d'hydrogénation de la strychnine, signalés par DENIGÈS, d'une part, en déterminant les variations de *p*H du réactif sous l'influence d'une neutralisation progressive, d'autre part, en lui appliquant la technique chromatographique.

ETUDE DES VARIATIONS DE *p*H

Protocole expérimental. — Le réactif hydrostrychnique, préparé extemporanément, fut dilué au 1/5e, placé dans un bécher maintenu à la température de 0° dans un bac à glace et neutralisé progressivement par des affusions lentes et connues de lessive d'hydroxyde de sodium diluée au 1/2,5e et préalablement décarbonatée.

Les variations de *p*H furent suivies à l'aide du *p*H-mètre de QUÉRÉ dans les conditions classiques d'utilisation de cet appareil.

La courbe I illustre, dans le graphique 1, les variations de *p*H obtenues avec le réactif hydrostrychnique.

Afin de pouvoir interpréter cette courbe, il était nécessaire d'effectuer parallèlement, et dans les mêmes conditions, des courbes de référence avec les différents composants de ce réactif. C'est la raison pour laquelle nous avons déterminé les courbes suivantes,

Courbe II : neutralisation d'une solution d'acide chlorhydrique de titre pratiquement correspondant à celui du réactif hydrostrychnique.

Courbe III : variation du *p*H d'une solution correspondante de strychnine non hydrogénée.

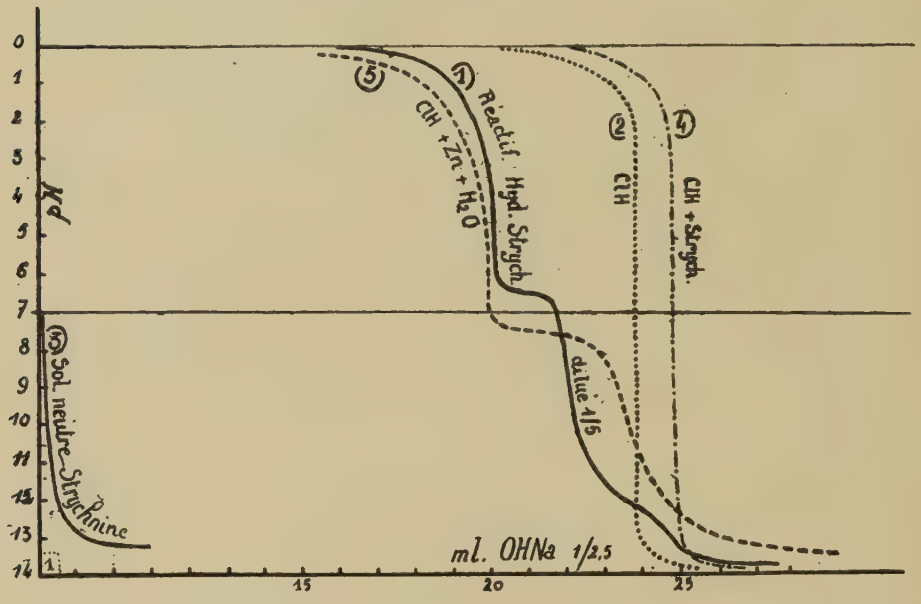


Fig. 1.

Courbes de neutralisation du réactif hydrostrychnique et de ses divers constituants.

Courbe IV : variation de *p*H d'un mélange d'acide chlorhydrique et de strychnine.

Courbe V : variation de *p*H d'un mélange dépourvu de strychnine, mais contenant le zinc attaqué dans le même temps par l'acide chlorhydrique.

Observations. — Tous ces résultats sont illustrés dans la figure 1.

L'examen de ces courbes montre que la ligne représentative du réactif hydrostrychnique (courbe I) présente un palier aux environs de *p*H 7, correspondant à la floculation

de l'hydroxyde de zinc (courbe V). Il est impossible d'en détecter d'autres. On observe toutefois une amorce d'un second palier aux environs de *p*H 12, qui correspond, nous l'avons vérifié, à la floculation de la strychnine.

Il est donc impossible, dans ces conditions opératoires, de mettre en évidence les constituants hydrogénés de la strychnine, signalés par Denigès (tétra-hydrostrychnine et strychnidine).

ETUDE CHROMATOGRAPHIQUE

L'étude chromatographique fut effectuée par la méthode ascendante classique de Williams et Kirby.

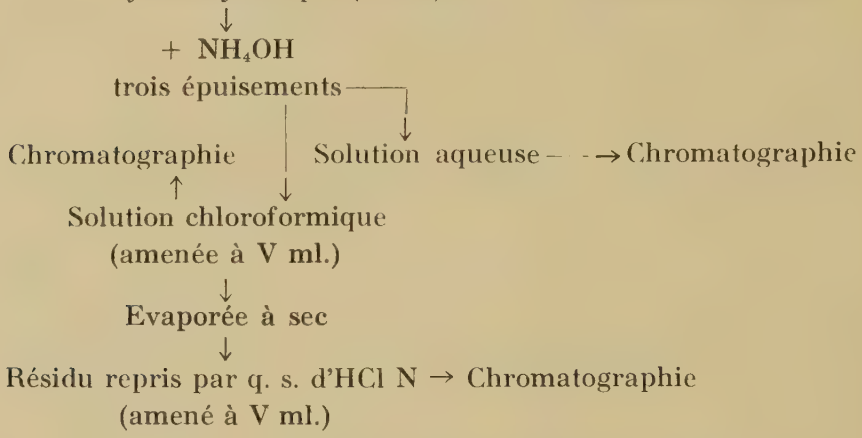
Dans un premier temps, après avoir pris connaissance des travaux de Machebœuf, nous avons recherché un solvant permettant à la fois de chromatographier la strychnine et les différents constituants du réactif hydrostrychnique.

Les différents mélanges étudiés sont les suivants :

1°	Butanol, eau, acide acétique = 40 + 30 + 30....	Rf : 0,91.
2°	Butanol, eau, acide acétique = 25 + 70 + 5.....	Rf : 0,91.
3°	Butanol, eau, acide acétique = 21 + 65 + 14....	Rf : 0,94.
4°	Butanol, eau, acide acétique = 22,5 + 65 + 12,5.	Rf : 0,96.
5°	Butanol, eau, acide acétique = 21 + 65 + 12,5..	Rf : 0,93.
6°	Butanol, eau, acide acétique = 35 + 50 + 15....	Rf : 0,90.
7°	Eau saturée de butanol	Rf : 0,36 en élongation.
8°	Eau saturée de butanol, acide acétique = 95 + 5.	Rf : 0,92.
9°	Eau saturée de butanol, acide acétique = 70 + 30	Rf : 1.
10°	Eau saturée de butanol, acide acétique = 99 + 1.	Rf : 0,90.
11°	Eau saturée de butanol, acide acétique = 98 + 2.	Rf : 0,87.
12°	Eau saturée de butanol, acide acétique = 97 + 3.	Rf : 0,90.
13°	Eau saturée de butanol, acide acétique = 96 + 4.	Rf : 0,89.
14°	Méthanol, eau = 5 + 95	Rf en élongation.
15°	Méthanol, eau = 50 + 50	Taches en élongation.
16°	Méthanol pur	Rf : 0,75 en élongation.
17°	Méthanol, acide acétique = 80 + 20.....	Rf : 0,89 en élongation.
18°	Méthanol, acide acétique = 95 + 5.....	Rf : 0,73 en élongation.
19°	Eau pyridinée à 8 p. 100	Rf : 0,75 en élongation.

Parmi tous les solvants, nous avons choisi le mélange eau saturée-butanol à 18° contenant 5 p. 100 d'acide acétique; c'est le plus fidèle et celui qui donne un spot le mieux délimité à Rf 92.

Après avoir vérifié que ce solvant donnait avec le réactif hydrostrychnique des spots toujours compris entre 0 et 1, nous avons entrepris l'étude détaillée de ce réactif selon le protocole schématisé ci-dessous.



La mise en train des chromatogrammes fut effectuée de la façon suivante :

— au centre, une goutte de strychnine et, de part et d'autre, une goutte de la fraction du réactif étudié.

Après l'ascension chromatographique et la dessiccation, le papier est sectionné en deux bandes longitudinales :

— l'une contenant le spot de strychnine et le ou les spots du liquide étudié, qui seront révélés au réactif de Draggendorf acétique dilué;

— l'autre contenant uniquement les spots du liquide étudié, mais qu'on révèlera au nitrite de sodium acétique.

Dans ces conditions, la première moitié du chromatogramme montrera les différentes fractions alcaloïdiques,

la deuxième partie indiquant uniquement les fractions du réactif hydrostrychnique actives vis-à-vis des oxydants.

Dans les chromatogrammes du réactif hydrostrychnique pur révélés à l'aide du réactif de DRAGGENDORF, nous avons identifié au maximum trois spots, à Rf 97, 92, 66, le spot à 0,92 étant celui de la strychnine; les deux autres, 0,97 et 0,66 se retrouvent avec le nitrite de sodium et représentent les deux constituants actifs vis-à-vis des oxydants.

Si l'on étudie le chromatogramme correspondant à la solution chloroformique directe, on ne retrouve que le constituant à Rf 0,97 à côté de la strychnine (Rf 0,92), donc le corps à Rf 0,66 a disparu.

Dans la solution chloroformique évaporée à sec et reprise par l'acide chlorhydrique normal, deux spots sont révélés avec le DRAGGENDORF, à Rf 0,97 et à 0,74, mais ne peuvent l'être par le nitrite de sodium. Ceci prouve que la dessiccation et l'oxydation à l'air ont transformé le corps à Rf 0,97 en deux substances inactives vis-à-vis des oxydants.

Quant à la phase aqueuse, épuisée, on n'y retrouve pratiquement aucun des constituants précédents.

On peut donc dire qu'au cours de l'hydrogénation de la strychnine, il se forme effectivement deux dérivés hydrogénés actifs vis-à-vis des oxydants. Il nous est toutefois impossible de dire qu'il s'agit de tétrahydrostrychnine et de strychnidine, comme l'avait indiqué DENIGÈS, mais cette hypothèse semble plausible.

CHAPITRE II

RÉACTIF HYDROSTRYCHNIQUE ET OXYDANTS

Dans le présent chapitre nous avons essayé d'étudier le comportement du réactif hydrostrychnique de DENIGÈS vis-à-vis d'un certain nombre d'oxydants.

Nous avons mis ce réactif en présence de solutions aqueuses neutres de $Cr_2O_7K_2$, MnO_4K, Cl_3Fe, ClO_3K, $S_2O_8K_2$ et d'eau oxygénée. L'expérience nous a montré que, dans chaque cas, on obtenait plus ou moins rapidement une très nette coloration rose ou rouge.

Avec ClO_3K, $S_2O_8K_2$, H_2O_2, il est nécessaire de chauffer, surtout pour les faibles concentrations. On constate que cette coloration est, dans certaines limites, proportionnelle à la quantité de produit mis en jeu; toutefois, si l'oxydant est en excès très marqué, la teinte obtenue, après s'être développée, disparaît complètement. Ce fait est surtout marqué pour les réactions qui nécessitent la chaleur.

Pour pouvoir comparer la sensibilité de la réaction vis-à-vis de ces différents systèmes, il nous a fallu, auparavant, déterminer les conditions expérimentales optimums pour chacun d'eux : c'est ce qui ressort des paragraphes suivants :

I. — ÉTUDE DU RÉACTIF SUR L'INTENSITÉ DE LA TEINTE

Protocole. — A 5 ml. de la solution oxydante étudiée prise à des concentrations décroissantes, on ajoute 2 ml. du réactif. On attend une demi-heure (où on maintient le

mélange cinq minutes au bain-marie bouillant pour les réactions nécessitant la chaleur). On mesure l'opacité à la cellule photo-électrique.

L'expérience montre, en première approximation, que la zone de proportionnalité de teinte est obtenue pour des solutions de titre inférieur à :

0,005 N pour $Cr_2O_7K_2$ et MnO_4K,
0,05 N pour $FeCl_3$ et ClO_3K,
0,01 N pour $S_2O_8K_2$.

Mais il ressort également des résultats obtenus illustrés par les courbes de la figure 5, p. 21, qu'un excès de réactif, loin d'augmenter l'intensité de la teinte, arrive à l'annuler complètement. Les courbes passent par un clocher. Pour les taux d'oxydants élevés, le réactif est détruit, la réaction n'a pas lieu. Au contraire, pour un excès de réactif, la coloration est fonction de la quantité d'oxydant mis en jeu.

II. — INFLUENCE DE LA QUANTITÉ DE RÉACTIF

Protocole. — A 6 ml. de réactif plus ou moins dilué, on ajoute 1 ml. de la solution oxydante étudiée, choisie à un titre tel que la détermination photo-électrique soit au maximum de sensibilité. Les lectures sont effectuées dans les mêmes conditions opératoires antérieurement signalées.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans les courbes de la figure 2.

Observations. — Le maximum de sensibilité de la teinte est obtenu avec :

$Cr_2O_7K_2$.....	pour un volume de	2 ml.	de réactif;
MnO_4K	—	1 ml.	—
Ion ferrique	—	3 ml.	—
ClO_3K	—	2 ml.	—
$S_2O_8K_2$.....	—	1 ml.	—

Sauf pour le perchlorate et le dichromate, où les courbes présentent un clocher, on n'observe, dans les trois autres

cas, qu'une variation peu accusée. Mais il ne faut pas oublier que plus la quantité de réactif augmente, plus l'acidité du milieu augmente aussi, et que cette acidité peut venir perturber les résultats.

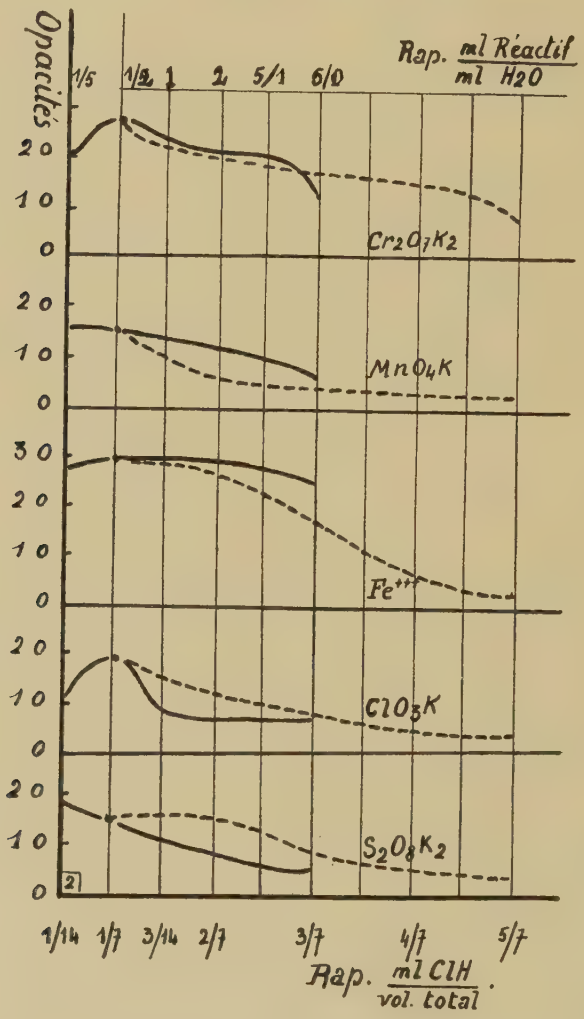


FIG. 2.

Variation de l'intensité de teinte en fonction de l'accroissement de la concentration en réactif ou en acide pour une même quantité de différents oxydants.

Quoi qu'il en soit, nous avons choisi le rapport de 2 ml. de réactif pour 6 ml. de solution étudiée, puisque, pratiquement dans tous les cas, il correspond au maximum d'intensité de la réaction.

III. — INFLUENCE DE L'ACIDITÉ DU MILIEU

L'expérience précédente nous montre sans aucun doute possible que l'acidité du milieu joue un rôle important sur l'intensité de la teinte. Nous avons étudié cette influence dans les conditions expérimentales suivantes :

A une quantité fixe de 2 ml. *du même réactif* nous avons ajouté un *même volume* de la solution oxydante, soit 1 ml., et nous avons complété le volume total à 7 ml. avec des mélanges à concentration d'acidité chlorhydrique croissante.

Les résultats obtenus sont schématisés dans les courbes en pointillé de la figure 2. Ces courbes ont été établies comparativement aux précédentes en tenant compte de l'acidité du milieu de ces expériences; donc, *les opacités correspondant aux mêmes acidités se trouvent sur les mêmes verticales.*

Cette façon d'exposer les résultats permet, en conséquence, de déterminer l'influence de l'accroissement de l'acidité lorsque la quantité de réactif s'accroît elle-même.

Il ressort essentiellement de ces chiffres que, plus l'acidité augmente, plus l'intensité de la teinte diminue. Maximum pour une concentration normale en ClH de 1/7, elle s'annule pratiquement pour une concentration chlorhydrique de 5/7.

Donc, si un accroissement de la concentration du réactif n'entraîne pas un accroissement parallèle de la teinte, ce fait est justiciable, pour une part au moins, de l'accroissement concomitant de l'acidité inhérente à l'addition progressive de réactif.

De telle sorte que les conditions optimums antérieurement

précisées, de proportionnalité entre le réactif et le volume de solution étudiée *(soit 2 p. 5)*, restent toujours valables.

IV. — INFLUENCE DE LA NATURE DU RÉACTIF

Du fait même de la préparation du réactif hydrostrychnique, basée sur l'hydrogénation catalytique de la strychnine, on pouvait penser que, plus cette hydrogénation serait de longue durée, plus on obtiendrait de variations dans l'intensité des colorations des différents systèmes oxydants.

Nous avons limité notre expérimentation aux trois systèmes suivants :

— chlorure ferrique,
— permanganate de potassium,
— chlorate de potassium,

les deux premiers réagissant à froid, le troisième à chaud.

Sur ces trois systèmes, nous avons fait agir cinq réactifs préparés dans des conditions identiques, mais en faisant varier les temps d'hydrogénation successivement durant cinq, vingt et trente minutes.

Les opacités que nous avons notées ont été mesurées à l'électro-photomètre, après qu'on ait laissé les mélanges en contact pendant une demi-heure, à la température du laboratoire.

Les résultats obtenus sont les suivants :

1 cm³ de Fe 1/20.000e	Après 5'	Après 20'	Après 30' d'hydrog.
2 cm³ de réactif n° 1..	28	29	29 d'opacité
— 2..	26	27	28 —
— 3..	28	29	31 —
— 4..	27	28	29 —
— 5..	27	28	28 —

1 cm³ de MnO_4K N/2.000	Après 5'	Après 20'	Après 30' d'hydrog.
2 cm³ de réactif n° 1..	14	13	14 d'opacité
— 2..	13	12	12 —
— 3..	16	13	13 —
— 4..	12	13	13 —
— 5..	12	14	13 —

1 cm³ de ClO_3K 1/20.000e	Après 5'	Après 20'	Après 30' d'hydrog.
2 cm³ de réactif n° 1..	16	17	26 d'opacité
— 2..	19	19	21 —
— 3..	13	17	22 —
— 4..	16	19	21 —
— 5..	15	17	23 —

Observations. — En examinant ces résultats, il semble que la durée de l'hydrogénation n'influe pas sensiblement sur l'intensité de la teinte, sauf cependant avec le chlorate de potassium qui nécessite le bain-marie bouillant. Dans ce cas, les valeurs obtenues avec le réactif hydrogéné trente secondes sont nettement supérieures à celles obtenues avec les deux autres.

C'est pourquoi nous utiliserons pratiquement une hydrogénation de dix à quinze minutes, temps moyen pour obtenir des résultats convenables, ainsi d'ailleurs que le recommandait Denigès.

V. — INFLUENCE DU TEMPS SUR L'INTENSITÉ DE LA RÉACTION

On observe très aisément, dès l'addition du réactif à la solution oxydante, que l'intensité de la teinte se développe progressivement. Après une demi-heure de contact, le maximum de la teinte semble être organoleptiquement obtenu.

Nous avons effectué, avec les différents systèmes oxydants étudiés, des mesures d'opacité de teinte, dans des temps compris entre une demi-heure et vingt-quatre heures après mélange.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans les graphiques de la figure 3, dans lesquels seuls ont été notés les écarts maximums.

Une étude particulière a été faite pour le dichromate de potassium (fig. 4).

Observations. — Les courbes ainsi réalisées montrent qu'il existe dans le temps des variations assez appréciables d'intensité de coloration, surtout pour les concentrations maximums en oxydants, soit qu'il y ait augmentation ou diminution. Ce fait est particulièrement marqué pour le chlorate et le dichromate de potassium. Au contraire, pour les faibles concentrations, cette variation est beaucoup plus faible, mais existe quand même.

De ces observations, nous tirons une conséquence immédiate : si l'on veut réaliser un dosage précis d'un quelconque de ces produits par la méthode ainsi élaborée, il serait illusoire de comparer l'intensité de teinte obtenue dans l'échantillon vis-à-vis d'une courbe étalon photométrique antérieurement réalisée. Il faudra nécessairement effectuer *avec le même réactif* une courbe extemporanée de référence à laquelle la valeur trouvée dans le dosage sera comparée; de ce fait, on réduira au maximum les erreurs imputables au temps, mais aussi à la nature même du réactif.

VI. — ÉTUDE COMPARATIVE DES DIFFÉRENTS SYSTÈMES OXYDANTS VIS-A-VIS DE L'INTENSITÉ DE LA RÉACTION.

L'expérience nous a montré que, sauf rares exceptions (eau bromée en particulier, laissée volontairement de côté pour cette raison), la qualité de la teinte obtenue (colora-

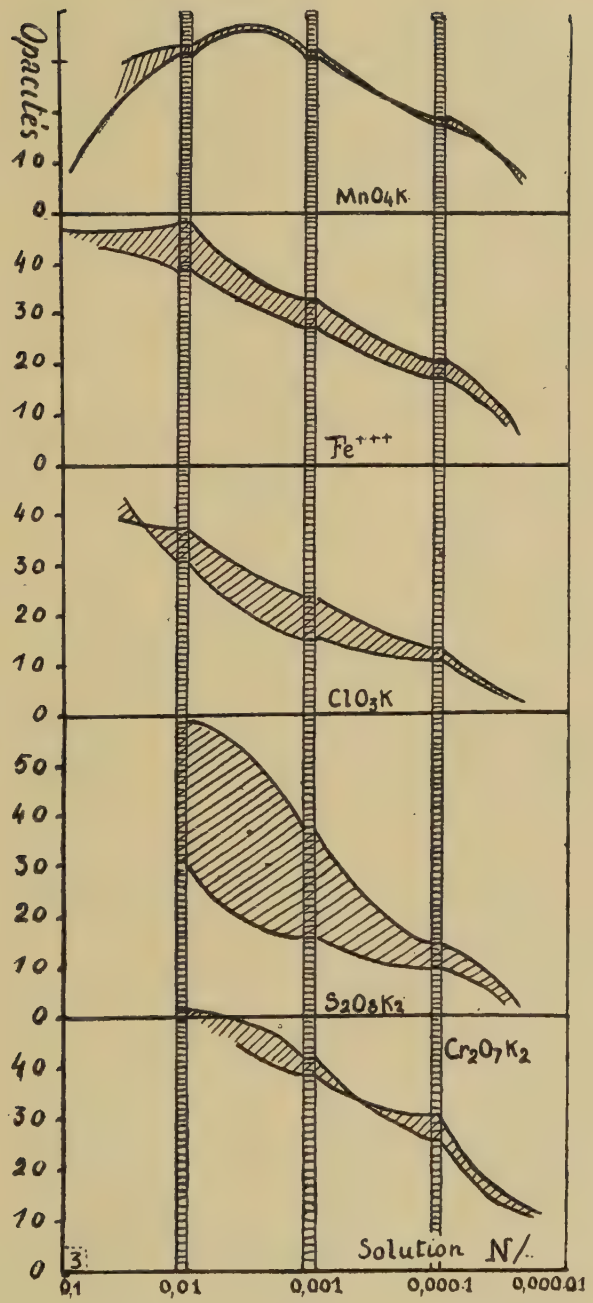


FIG. 3.

Variations extrêmes de l'intensité de teinte en fonction du temps (demi-heure à vingt-quatre heures).

tion rose) était toujours la même, quelle que soit la nature chimique de l'oxydant considéré.

On devait, de ce fait, se demander *si l'intensité de la teinte était uniquement proportionnelle à la quantité d'oxygène libéré dans chaque système oxydant.*

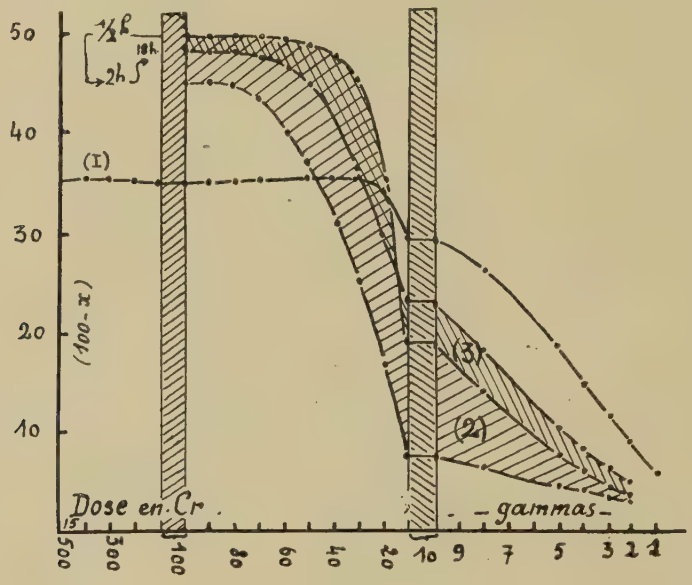


Fig. 4.

Courbe I. — Rapport : 5 ml. solution pour 2 ml. réactif.
Zone (2) : marge de variation de la teinte en fonction du temps.
Zone (3) : marge de variation en fonction du réactif.
Autres courbes : 1 ml. de solution pour 5 ml. de réactif.

Nous avons essayé de résoudre ce problème de la façon suivante :

Comme toutes les réactions s'effectuent en milieu très dilué et en présence d'une forte concentration en acide chlorhydrique (voisine de 1/6 à 1/7 en volume), on peut admettre que l'oxygène dégagé dans la réaction doive quantitativement se fixer sur la fraction hydrostrychnique du réactif en élaborant une coloration proportionnelle à la quantité d'oxygène dégagé.

De ce fait, toutes les solutions oxydantes présentant la même normalité devraient donner des teintes de même opacité.

Solutions de référence. — Elles furent faites 0,1 N en tenant compte des équivalents suivants :

$Cr_2O_7K_2$	6 e
MnO_4K	5 e
Fe	1 e
ClO_3K	6 e
$S_2O_8K_2$	2 e

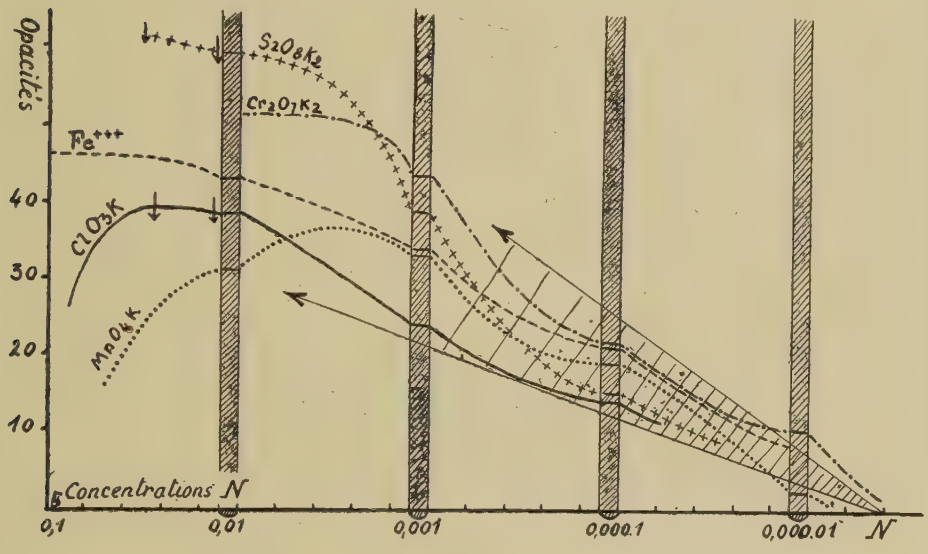


Fig. 5.

Courbes des variations d'opacité en fonction des concentrations décroissantes des divers systèmes oxydants étudiés.

Mode opératoire. — A 5 ml. de solution 0,1 N, 0,05 N, 0,01 N, 0,005 N..., etc., on ajoute 2 ml. d'*un même réactif* hydrostrychnique. Le mélange ainsi obtenu est passé à la cellule photo-électrique dans les conditions précédemment décrites.

Les résultats trouvés sont illustrés dans le graphique 5.

Observations. — Si le principe qui nous a guidé était

exact, toutes les courbes obtenues devraient se *superposer*.

Le simple examen du graphique montre qu'à première vue, il n'en est rien. Toutefois, si nous envisageons un examen plus schématique de l'ensemble, nous constatons que toutes ces courbes ont pour enveloppe deux droites, formant un angle très aigu; elles convergent vers la partie droite sur l'axe des abscisses au point de concentration 0,000006 N. Par contre, vers la partie gauche, les courbes explosent dans toutes les directions pour les concentrations supérieures à 0,005 N, prouvant ainsi que des réactions secondaires parasites viennent se greffer sur la réaction de base.

Dans ces conditions, nous pouvons dire que, *à la limite*, la réaction hydrostrychnique est bien une réaction purement oxydative et que la teinte formée ne dépend qualitativement et quantitativement en aucune façon de la nature de l'oxydant mis en jeu.

VII. — LIMITE DE SENSIBILITÉ

$Cr_2O_7K_2$: 50 mcg. par litre, exprimé en Cr.
MnO_4K : 90 mcg. par litre, exprimé en Mn.
Fe : 500 mcg. par litre, exprimé en Fe.
ClO_3K : 1 mg. par litre, exprimé en chlorate.
$S_2O_8K_2$: 1,35 mg. par litre, exprimé en persulfate.
H_2O_2 : 70 mcg. par litre, exprimée en 0 atomique.

Nota. — Nous n'avons pas poursuivi plus avant l'étude de l'action de l'eau oxygénée, car la zone de proportionnalité de teintes est très restreinte (entre 1.400 et 70 mcg. d'oxygène par litre).

Pour les doses supérieures, la détermination est masquée par la formation d'un précipité qui disparaît, il est vrai, par acidification.

Pour les concentrations élevées (70 mg. par litre), la teinte réapparaît dans son intégrité, mais elle n'est pas intense,

Conclusions. — Il ressort des résultats précédents que le réactif hydrostrychnique est un réactif général très sensible des oxydants. Ces derniers peuvent agir sur lui soit à chaud, soit à froid, selon leur nature.

L'intensité de coloration dépend essentiellement de l'acidité et des concentrations réciproques entre oxydants et réactifs :

— si ce dernier est en défaut, la teinte est fugace et la décoloration rapide et totale;

— s'il est en excès, son acidité affaiblit cette intensité.

Il existe une zone de concentrations pour chaque oxydant où, dans les conditions que nous avons définies, il y a proportionnalité de teinte. Ce fait permet un dosage colorimétrique aisé et rapide de quantités infimes de tous les oxydants, à condition que leur nature chimique soit connue et qu'ils ne soient pas mélangés les uns aux autres.

Ce dosage doit toutefois être effectué pour donner son maximum de sensibilité comparativement à une solution de référence traitée dans les mêmes conditions opératoires, avec le même réactif et dans les mêmes temps.

Nous avons en outre démontré que, dans la plupart des cas et dans les limites de concentration que nous avons précisées, le réactif hydrostrychnique est un réactif quantitatif de l'oxygène dégagé dans la réaction oxydative.

CHAPITRE III

ALDÉHYDES ET RÉACTIF HYDROSTRYCHNIQUE

Ayant par hasard constaté que le réactif hydrostrychnique donnait à chaud une intense coloration bleue avec le formol, nous avons essayé par la suite de déterminer le comportement de ce réactif prétendu spécifique de la fonction oxydante vis-à-vis des réducteurs.

De l'ensemble des essais préliminaires effectués, il ressort que les corps présentant *la fonction aldéhydique donnent une réaction positive.*

Nous avons obtenu des réactions diversement colorées avec les aldéhydes suivants en solution aqueuse :

1° Formol,
2° Chloral,
3° Glyoxal,
4° Aldéhyde vanillique,
5° Aldéhyde benzoïque,
6° Paradiméthylaminobenzaldéhyde,
7° Aldéhyde cinnamique,
8° Aldéhyde anisique;
9° Aldéhyde propylique;
10° Glucose, lactose, galactose.

Conditions opératoires. — A 5 ml. de la solution aqueuse de l'aldéhyde étudié, nous avons ajouté 2 ml. de réactif hydrostrychnique, puis porté le mélange au bain-marie bouillant durant au moins une demi-heure,

Dans ces conditions, nous avons obtenu les colorations suivantes :

Formol (dilution du soluté officinal au 1/1.000e) : coloration bleue;
Chloral (1/500e) : coloration rose pâle;
Glyoxal (1/500e) : coloration verte;
Vanilline (1/500e) : coloration bleue violette;
Aldéhyde benzoïque (à 0,30 p. 1.000) : coloration verte;
Paradiméthylaminobenzaldéhyde (à 10 p. 1.000) : coloration verte;
Aldéhyde cinnamique (à 2 ml. p. 1.000) : coloration verte;
Aldéhyde anisique (à 2 ml. p. 1.000) : coloration verte;
Aldéhyde propylique (à 5 ml. p. 1.000) : coloration vert pâle;
Glucose (à 2 p. 100) : néant;
Galactose (à 2 p. 100) : néant;
Lactose (à 2 p. 100) : néant.

En première approximation, nous pouvons donc dire que les oses étudiés — qui présentent une fonction aldéhydique bloquée — ne sont pas aptes à donner une réaction colorée avec le réactif hydrostrychnique. Il en est pratiquement de même avec l'hydrate de chloral.

Au contraire, tous les autres aldéhydes donnent, à peu de chose près, la même coloration verte, sauf le formol qui donne une coloration bleue, et la vanilline une coloration bleue violacée.

Devant ces résultats, nous avons étudié particulièrement les aldéhydes qui présentent un intérêt pharmaceutique : formol, aldéhyde benzoïque et vanillique.

Protocole expérimental. — Nous avons déterminé les conditions optimums de formation de la teinte, ainsi que la limite de sensibilité de la réaction.

A 5 ml. d'une solution plus ou moins diluée de l'aldéhyde étudié, nous avons ajouté 2 ml. de réactif hydrostrychnique en milieu plus ou moins acide. L'ensemble fut porté au

bain-marie bouillant jusqu'à ce que l'intensité de la teinte restât fixe. Les mesures ont été effectuées à la cellule photo-électrique.

I. — LE FORMOL

A. — Etude colorimétrique qualitative de la réaction

Observations. – Nous rappelons que la teinte obtenue est bleu foncé.

Les tubes abandonnés à eux-mêmes conservent leur coloration bleue pendant plusieurs semaines.

Après acidification massive par l'acide sulfurique, la coloration bleue fait place à une coloration verte moins intense.

Par alcalinisation ammoniacale, la coloration bleue disparaît, mais une nouvelle acidification la fait réapparaître.

La coloration n'est soluble dans aucun solvant organique usuel.

B. — Etude colorimétrique quantitative

La solution étalon de formol officinal prise comme solution étalon de référence fut préalablement titrée par la technique du Codex; nous avons obtenu le titre de 30,60 p. 100.

En étudiant des dilutions croissantes de cette solution étalon, nous avons pu conclure que :

1° La limite de sensibilité s'établit aux environs de 4 mg. de formol par litre, pour un temps de chauffe d'une demi-heure.

Cette limite peut être reculée pour des temps de chauffage plus importants.

2° L'intensité de la coloration n'est pas toujours proportionnelle à la concentration.

La loi de Beer ne se vérifie que pour des concentrations inférieures à 500 mg. de formol par litre. Pour des concentrations supérieures à 600 mg., la teinte décroît progressivement en intensité, pour tendre à se stabiliser quand la richesse du soluté devient égale ou supérieure à 1 g. par litre.

Les résultats que nous venons d'énoncer furent acquis en utilisant le réactif en milieu faiblement acide, correspondant à 1/7 en volume d'acide chlorhydrique officinal.

Influence de l'acidité. — Nous avons étudié le comportement de la réaction en fonction du taux d'acidité chlorhydrique du milieu vis-à-vis d'une proportion de réactif égale à 2/7.

Pour cela nous avons constitué trois séries d'acidité différente :

— la première correspondant à une acidité voisine de 1/7 en volume (courbe I, fig. 6) ;

— la deuxième correspondant à une acidité voisine de 1/3 (courbe (II) ;

— la troisième à une acidité de 3/7 (courbe III).

De l'examen des trois courbes de la figure 6, on peut déduire qu'à une augmentation progressive de l'acidité correspond une diminution de l'intensité de la teinte, accompagnée d'une diminution de la sensibilité de la réaction, et un déplacement du maximum d'intensité dans le sens des accroissements de concentration.

Influence de la concentration du réactif. — Nous avons effectué deux séries d'expériences portant sur les mêmes dilutions de formol précédentes, mais en présence de concentrations de réactif égales à 2/7 (courbe I), 1/7 (courbe IV), 1/14 (courbe V) en volume.

On constate ainsi que les meilleurs résultats sont obtenus pour un rapport de 2/7 en volume de réactif, alors qu'une concentration deux fois plus faible conduit à un abaissement proportionnel de l'intensité de la coloration.

Conclusions. — A la lueur de ces résultats, nous pouvons conclure à la possibilité d'une caractérisation et d'un dosage d'une solution aqueuse de formol par le réactif hydrostrychnique, à condition d'opérer dans une certaine zone de concentrations et en milieu le plus faiblement acide possible.

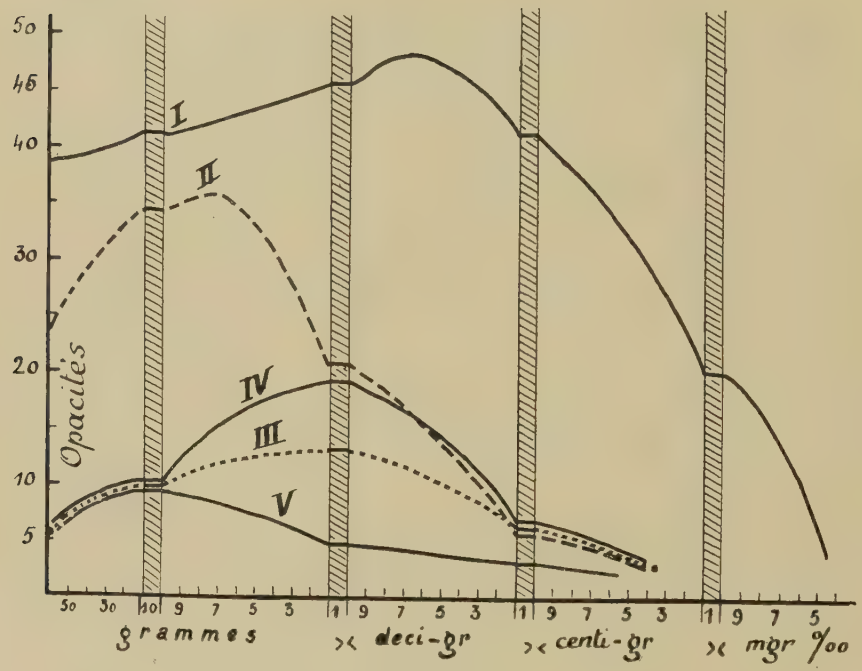


Fig. 6.

Courbes des variations d'opacité de la teinte en fonction de la concentration en formol, de l'acidité du milieu et de la concentration en réactif.

II. — ALDÉHYDE BENZOÏQUE

A. — Etude qualitative

Nous avons vu que la coloration obtenue dans les conditions précédemment citées est d'un beau vert émeraude.

Cette coloration :

— *disparaît par alcalinisation ammoniacale,* mais reparaît par acidification chlorhydrique;

— *est stable en milieu acétique* même concentré;
— *n'est pas soluble dans les solvants organiques usuels* non miscibles à l'eau, sauf dans le chloroforme et les alcools amylique et butyliques.

B. — Etude quantitative

L'expérience nous a montré que l'intensité de la coloration dépend d'un certain nombre de facteurs :
— concentration en aldéhyde benzoïque;
— temps de chauffage;
— concentration en hydrostrychnine du réactif;
— acidité du milieu.

Nota. — L'aldéhyde benzoïque étant de mauvaise conservation du fait de son auto-oxydation, nous avons dû, avant chaque expérimentation, effectuer un dosage par la phénylhydrazine sur la solution mère, selon la technique du Codex.

L'influence de ces quatre facteurs fut étudiée simultanément sur des dilutions de plus en plus importantes d'aldéhyde, soumises dans des séries parallèles, soit à une plus ou moins grande quantité de réactif, soit à la même quantité de réactif plus ou moins riche en strychnine et plus ou moins acide.

L'ensemble des résultats obtenus est schématisé dans les figures 7 et 8.

L'étude de ces graphiques montre que la coloration maximum :

— est atteinte après cinq heures de bain-marie bouillant. La vitesse d'apparition de la teinte est d'autant plus rapide que la concentration en aldéhyde est plus importante (fig. 7);

— est pratiquement instantanée pour une concentration supérieure à 0,4 g. p. 1.000;

— apparaît seulement à la quarante-cinquième minute, pour une concentration de 0,015 g. p. 1.000, et au bout

seulement de quatre heures et demie pour une concentration de 0,0075 g. p. 1.000.

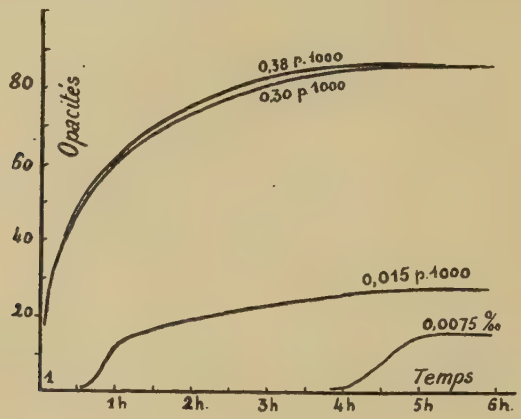


Fig. 7.

Influence du temps de chauffage.

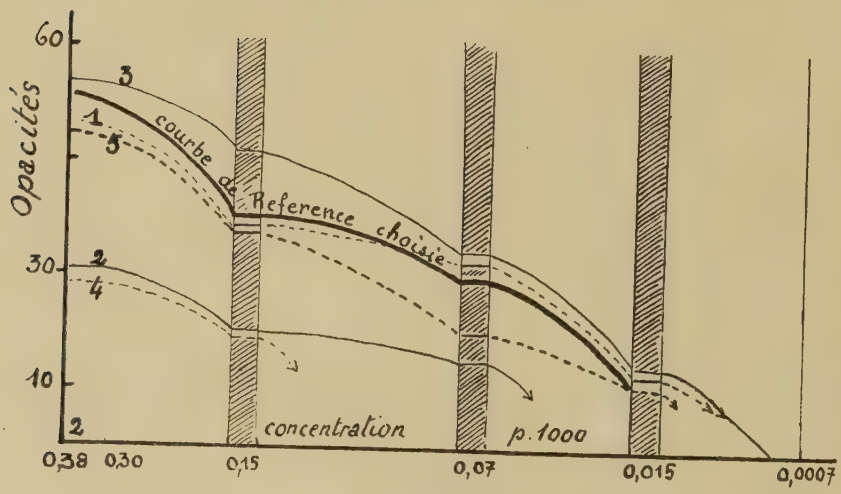


Fig. 8.

Influence de l'acidité et de la concentration en réactif.

Influence de l'acidité et de la concentration en strychnine. — Cette étude, illustrée par la figure 8, a été effectuée dans les conditions suivantes :

Cinq séries de concentration décroissante en aldéhyde

furent traitées respectivement et pour un volume constant avec des quantités fixes de réactif hydrostrychnique et des quantités variables d'acide chlorhydrique.

L'opacité fut mesurée après deux heures de bain-marie bouillant seulement, pour ne pas allonger inutilement les conditions expérimentales.

	Concentration en ClH	Concentration en R. Hyd. Strych.
Courbe V (fig. 7) ..	0,5/7	1/7
Courbe I	1/7	1/7
Courbe IV	2/7	1/7
Courbe II	1/7	0,5/7
Courbe III	1/7	1,5/7

Observations. — Les trois premières courbes (V, I, IV) étudient l'influence de l'acidité sur l'intensité de la teinte.

On peut déduire de leur allure que la courbe I, au 1/7e d'acidité, donne les meilleurs résultats. En effet, quand l'acidité est doublée (courbe IV, 2/7e contre 1/7e), on observe un véritable écroulement de la teinte et la perte de toute sensibilité de la réaction.

Les courbes I, II et III étudient l'influence de la concentration en réactif hydrostrychnique. Leur aspect général montre que l'intensité de la teinte est fonction, surtout pour les fortes concentrations en aldéhyde, de la richesse initiale du réactif en strychnine.

Conséquences. — L'aldéhyde benzoïque peut donc être titré colorimétriquement par la méthode étudiée, dans les conditions d'optimum de sensibilité suivantes :

a) Taux en aldéhyde compris entre 0,30/1.000e et 0,014/1.000e;

b) Concentration en réactif hydrostrychnique de 1,5/7e du volume total;

c) Chauffage au bain-marie bouillant : *cinq heures.*

Application au dosage de l'aldéhyde benzoïque dans l'eau distillée de Laurier-Cerise. — Nous avons modifié légèrement les conditions optimums précédentes afin de rendre la technique plus aisée. Si la réaction perd un peu de sa sensibilité, elle acquiert en revanche une plus grande commodité.

Technique proposée. — 5 ml. d'eau de Laurier-Cerise diluée au 1/10e, 2 ml. de réactif hydrostrychnique; bain-marie bouillant, *deux heures*. Lecture au photo-colorimètre avec écran orange.

On se réfère à une courbe étalon effectuée dans les mêmes conditions expérimentales, obtenue soit à partir d'aldéhyde benzoïque, soit à partir d'une eau de Laurier-Cerise étalon (voir fig. 8, la courbe en trait gras).

Nous avons tenu à vérifier que la réaction ne se produisait pas si l'on opérait avec une solution d'HCN 1/1.000e, prouvant ainsi que les résultats obtenus sont uniquement dus à l'aldéhyde benzoïque.

Nous rappelons que le taux de l'aldéhyde benzoïque dans l'eau de Laurier-Cerise ne doit pas être inférieur à 0,30/1.000e d'après le Codex.

Nous avons appliqué cette technique à trois eaux de provenances différentes, dont le titre en aldéhyde a été comparativement déterminé par la méthode du Codex.

	Méthode a la phényl hydrazine	Méthode personnelle
	(p. 1.000)	(p. 1.000)
Eau de L.-C. (Darrasse)....	0,28	0,27
— — (Labo. Fac.)...	0,28	0,27
— — (Pharmacie X.).	0,22	0,24

On peut donc constater que cette méthode, beaucoup plus rapide que celle du Codex, donne d'excellents résultats.

III. — LA VANILLINE

Etude qualitative de la coloration

Nous rappelons que la coloration obtenue est bleue-violacée pour une solution à 0,25 g. p. 100, et verte pour une solution très diluée (quelques mg. p. 100).

Ceci correspond aux conditions expérimentales précédemment exposées.

En réalité, la teinte dépend :

— du temps de chauffage,

— de l'acidité du milieu,

— de la concentration du réactif.

Les résultats obtenus avec la solution à 0,05 p. 100 sont schématisés dans le tableau suivant :

Teintes obtenues en fonction des concentrations en réactif et en acide

Rapport réactif/volume total...	2/7	3/7	5/7
Teinte obtenue après 1/2 heure de B.-M. :	bleu pâle	violet pâle	rose pâle
Teinte obtenue après 1/2 heure de B.-M. pour un rapport HCl/volume total 3/7 :	rose	rose	rose
Teinte obtenue après 1 heure de B.-M. :	bleu vert	bleu vert	violet
Teinte obtenue après 1 heure de B.-M. pour un rapport HCl/volume total 3/7 :	rose violacé	rose violacé	violet lilas
Teinte obtenue après 2 heures de B.-M. :	bleu vert intense	bleu vert	bleu violet

Du fait de l'extrême variabilité de la coloration, il est très difficile de conclure. Il résulte de nos observations que si le chauffage dure cinq heures, les résultats obtenus sont toujours identiques à eux-mêmes. C'est pourquoi nous avons adopté dans toutes nos expériences ce temps optimum de chauffe.

Dans ces conditions, la variation d'intensité des colorations en fonction de la concentration s'établit selon la courbe inférieure de la figure 9.

Cette courbe montre qu'il existe une excellente proportionnalité de teinte pour des concentrations inférieures à 0,1 p. 100.

La limite de sensibilité s'établit à 0,0005 g. p. 100.

Les caractères de solubilité de la teinte dans les différents solvants organiques non miscibles à l'eau sont indiqués dans le tableau des pages 38 et 39.

Cette réaction présente donc une extrême sensibilité et peut très aisément servir à un dosage de la vanilline dans les produits liquides vendus dans le commerce sous le nom de parfums vanillés ou vanillinés.

La technique proposée est la suivante :

Si le produit est en poudre (farine alimentaire), en épuiser, dans une allonge, 5 à 20 g. par de l'éther ou du chloroforme; s'il est en solution, épuiser à trois reprises 5 à 10 ml. de liquide par l'un ou l'autre solvant. Laisser évaporer spontanément ce solvant à la température ordinaire; reprendre par 5 ml. de NaOH N, ajouter 2 ml. de réactif, porter au bain-marie pendant cinq heures, effectuer une détermination colorimétrique classique.

IV. — ALDÉHYDES DIVERS

Outre les aldéhydes précédents, nous avons étudié également :

— le para-diméthyl-amino-benzaldéhyde,

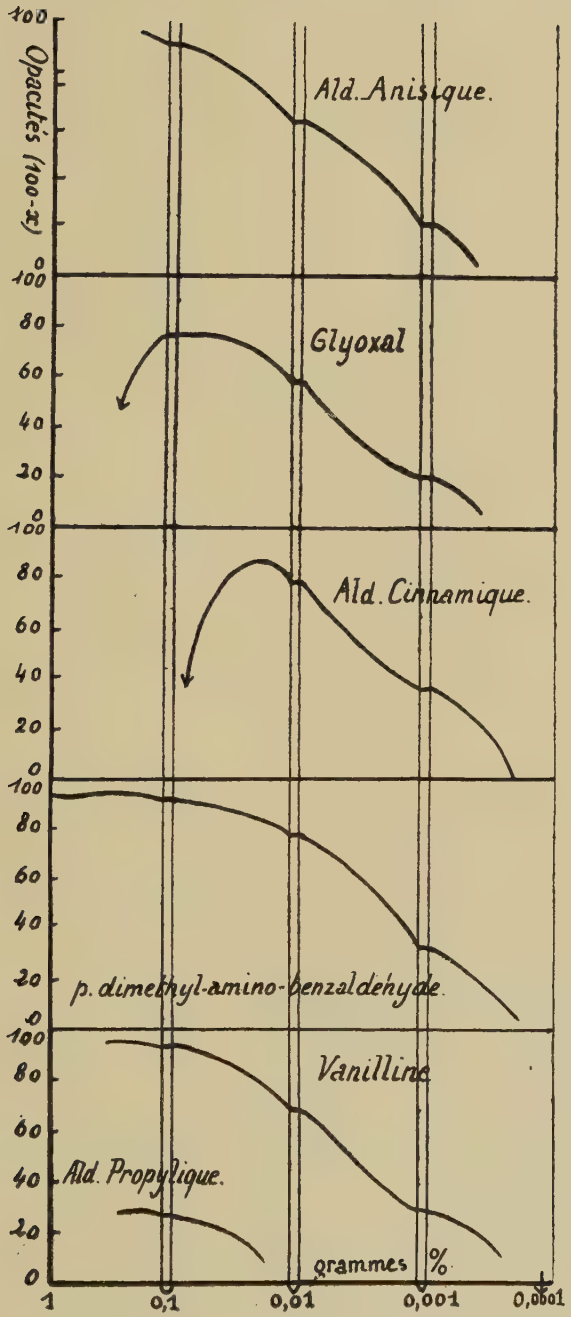


Fig. 9.

Variation de l'opacité de teinte de quelques solutions aldéhydiques en fonction de leurs concentrations.

— l'aldéhyde cinnamique,
— le glyoxal,
— l'aldéhyde anisique,
— l'aldéhyde propylique.

A. — Etude quantitative

Le protocole expérimental utilisé pour l'étude quantitative de la réaction colorée fut toujours le même :

A 5 ml. de la solution aqueuse aldéhydique, on ajoute 2 ml, de réactif hydrostrychnique et on porte le mélange ainsi obtenu au bain-marie bouillant pendant cinq heures.

Les solutions furent étudiées selon une gamme décroissante allant de :

1 g.	à 0,2	mmg. p. 100	pour le para-diméthylaminobenzaldéhyde;
0,201 g.	à 0,5	mmg. p. 100	— l'aldéhyde cinnamique;
0,361 g.	à 0,7	mmg. p. 100	— le glyoxal;
0,225 g.	à 0,045	mmg. p. 100	— l'aldéhyde anisique;
0,45 g.	à 0,45	mmg. p. 100	— l'aldéhyde propylique.

A la sortie du bain-marie, on constate que tous les tubes sont plus ou moins colorés en vert. On les passe à la cellule photo-électrique et les résultats obtenus sont mentionnés dans les courbes de la figure 9 donnant les variations d'intensité de la coloration en fonction de la concentration pour 100.

L'expérience montre que :

1° L'aldéhyde propylique donne une coloration infiniment peu intense et sans proportionnalité marquée par rapport à la concentration;

2° Pour tous les autres aldéhydes étudiés, il existe une excellente proportionnalité de teinte pour des concentrations inférieures à 0,05 g. p. 100;

3° Pour les concentrations supérieures, on observe la plupart du temps une diminution très importante de la teinte, allant même jusqu'à la décoloration.

Une solution trop concentrée donnera donc une réaction négative.

B. — Etude qualitative

Nous avons étudié la solubilité de la teinte dans différents solvants organiques non miscibles à l'eau, et le comportement de la coloration lors de l'alcalinisation du mélange par l'ammoniaque.

En principe, si la coloration verte était due uniquement à la formation d'un dérivé de la strychnine, ce dérivé, quel que soit l'aldéhyde mis en jeu, devrait toujours être le même. Nous avons pu constater qu'il n'en était rien.

Protocole expérimental. — Nous avons agité 5 ml. de la solution colorée avec 15 ml. d'un des solvants suivants :

— benzène,
— chloroforme,
— éther de pétrole,
— éther sulfurique,
— tétrachlorure de carbone,
— trichloroéthylène,
— sulfure de carbone,
— alcool éthylique normal,
— alcool amylique,
— alcool isobutylique.

Nous avons noté les colorations de la phase aqueuse et de la phase du solvant. Puis, sur un deuxième échantillon, et après alcalinisation par un excès d'ammoniaque, nous avons répété la même opération et noté également la variation de teinte.

Le tableau ci-après (voir pp. 38 et 39) mentionne l'ensemble des résultats obtenus.

Nota. — Le tableau ci-après n'a de valeur que si la durée de chauffe a été de cinq heures. Pour des temps inférieurs, les colorations peuvent être différentes.

	Para - diméthyl - amino - benzaldéhyde				Aldéhyde cinnamique				Aldéhyde	
			+ NH_4OH				+ NH_4OH			
	Solv.	Eau	Solv.	Eau	Solv.	Eau	Solv.	Eau	Solv.	Eau
Benzène.....	0	vert	0	0	0	vert	0	0	0	vert
Chloroforme.....	bleu	vert	0	0	0	vert	0	0	0	vert
Ether de pétrole.....	0	vert	0	0	0	vert	0	0	0	vert
Ether sulfurique.....	0	vert	0	0	0	vert	0	0	0	vert
Tétrachlorurue de C...	0	vert	0	0	0	vert	0	0	0	vert
Trichloro-éthylène....	0	vert	0	0	0	vert	0	0	0	vert
Sulfure de carbone...	0	vert	0	0	0	vert	0	0	0	vert
Alcool n. - butylique..	bleu	vert	0	0	bleu	violet	0	0	vert	rose
Alcool amylique.....	bleu	vert	0	0	bleu	violet	0	0	vert	jaune
Alcool iso-butylique..	bleu	vert	0	0	bleu	violet	0	0	»	»

BENZOÏQUE		ALDÉHYDE ANISIQUE				ALDÉHYDE VANILLIQUE				GLYOXAL			
+ NH_4OH				+ NH_4OH				+ NH_4OH				+ NH_4OH	
Solv.	Eau	Solv.	Eau	Solv.	Eau	Solv.	Eau	Solv.	Eau	Solv.	Eau	Solv.	Eau
0	0	0	vert	0	0	0	bleu	rose	0	0	vert	0	0
0	0	vert	mauve pâle	0	0	0	bleu	rose	0	bleu	vert	bleu	0
0	0	0	vert	0	0	0	bleu	0	0	0	vert	0	0
0	0	0	vert	0	0	0	bleu	rose	0	0	vert	0	0
0	0	0	vert	0	0	0	bleu	rose	0	0	vert	0	0
0	0	0	vert	0	0	0	bleu	rose	0	0	vert	0	0
0	0	0	vert	0	0	0	bleu	mauve	0	0	vert	0	0
0	0	vert	mauve	0	0	bleu	violet	mauve	0	bleu foncé	vert	bleu	0
0	0	vert	mauve	0	0	bleu	0	mauve	0	bleu	vert foncé	bleu	0
0	0	vert	0	0	0	bleu	vert jaune	mauve	0	bleu	vert	bleu	0

Observations. — L'examen du tableau montre que le benzène, l'éther de pétrole, l'éther sulfurique, le trichloroéthylène, le sulfure de carbone ne solubilisent pas la teinte, que ce soit en milieu acide ou alcalin.

Par contre, le chloroforme et les alcools butyliques et amylique présentent des propriétés dissolvantes spécifiques pour les différents aldéhydes étudiés.

La solubilité dans le chloroforme permet de diagnostiquer :

1° *L'aldéhyde anisique,* dont la coloration verte passe dans ce solvant, la phase aqueuse étant mauve pâle;

2° *Le para-diméthyl-amino-benzaldéhyde* ou le *glyoxal,* qui donnent tous les deux un solvant coloré en bleu et une phase aqueuse colorée en vert pâle; la différenciation de ces aldéhydes se fera par la solubilisation de la teinte bleue dans les alcools amylique ou butyliques en milieu ammoniacal pour le glyoxal, alors que le para-diméthyl-amino-benzaldéhyde est entièrement décoloré dans ces conditions.

Les aldéhydes cinnamique, benzoïque et vanillique ne manifestent aucune solubilité dans le chloroforme, mais l'examen du tableau montre qu'ici encore, les alcools butyliques et amylique peuvent servir à les différencier.

En effet, le solvant est, dans ce cas, coloré en bleu et la phase aqueuse en violet, pour l'aldéhyde cinnamique.

Le solvant est vert, la phase aqueuse rose-jaune pour l'aldéhyde benzoïque.

Quant à la vanilline, elle donne une coloration mauve en milieu ammoniacal.

CONCLUSIONS

Après avoir rappelé dans l'introduction les données essentielles de la réaction de MALAQUIN et l'adaptation qu'en fit DENIGÈS, sous le nom de réactif hydrostrychnique, nous avons étudié la constitution de ce réactif en utilisant :

1° Les méthodes électrométriques de variations de *p*H lors de sa neutralisation progressive;

2° La méthode chromatographique.

Notre but essentiel était de définir la présence des deux dérivés hydrogénés de la strychnine : tétrahydrostrychnine et strychnidine, qu'avait signalés DENIGÈS.

L'étude des variations de *p*H du réactif, effectuée au *p*H-mètre de QUÉRÉ, comparativement sur les différents constituants normaux du réactif, n'a pas permis de mettre en évidence la présence de ces deux dérivés sur la courbe de neutralisation.

La méthode chromatographique, par contre, appliquée non seulement au réactif lui-même, mais encore à son produit d'épuisement chloroformique, soit directement, soit après évaporation, a permis de mettre en évidence deux produits actifs sur les oxydants, qui, pour le solvant choisi (eau saturée de butanol + 5 p. 100 d'acide acétique), présentent respectivement des Rf de 0,97 et 0,66.

Il existe donc deux dérivés hydrogénés de la strychnine qui donnent, avec les nitrites, une coloration rose, mais ces corps sont plus ou moins transformés ou détruits au cours du traitement aboutissant à leur solubilisation chloroformique,

Dans le chapitre II, nous avons étudié le comportement du réactif hydrostrychnique vis-à-vis d'un certain nombre d'oxydants : dichromate de potassium, permanganate de potassium, chlorure ferrique, chlorate de potassium, persulfate de potassium.

Nous avons montré qu'ils donnent tous, selon qu'on expérimente à chaud ou à froid, *une même coloration rose.*

Nous avons effectué pour chacun d'eux une étude se rapportant à l'influence sur l'intensité de la teinte :

— de la concentration en réactif;
— de l'activité du milieu;
— de la nature même du réactif;
— du temps de réaction.

Les résultats sont indiqués sous forme de graphiques. Il en résulte essentiellement :

1° Que l'intensité de la teinte diminue, soit en fonction de l'accroissement de l'acidité du milieu, soit en fonction de l'accroissement de la concentration en réactif, cette deuxième influence étant une conséquence indirecte de la première;

2° Qu'on constate, sur l'intensité des colorations, une variabilité de l'influence du temps selon la nature de l'oxydant étudié : négligeable pour le permanganate, elle est maximum pour le persulfate.

Enfin, nous avons procédé à une étude comparative de l'intensité de la teinte sur des solutions de même normalité pour chacun des oxydants considérés.

Nous avons montré ainsi que :

1° La limite de sensibilité, exprimée en oxygène, est sensiblement la même pour tous;

2° La zone de proportionnalité de teinte n'est certaine que pour des concentrations comprises entre 0,001 N et 0,000006 N;

3° Pour des concentrations supérieures, la réaction colorée peut ne pas se manifester;

4° Cette réaction très sensible peut être appliquée à la détection des oxydants en général.

Enfin, dans le troisième et dernier chapitre, nous avons mis en évidence le fait que *le réactif hydrostrychnique peut également donner des réactions colorées, généralement vertes, avec des composés présentant une fonction aldéhydique libre.*

Nous avons étudié essentiellement son comportement vis-à-vis du formol, de l'aldéhyde benzoïque, de la vanilline et, accessoirement, du chloral, du glyoxal, du paradiméthylaminobenzaldéhyde, des aldéhydes cinnamique, anisique et propylique. Il convient de noter que les oses sont inactifs dans nos conditions opératoires.

La technique est celle de la recherche des oxydants, mais nécessite le passage au bain-marie bouillant pendant cinq heures.

Pour le formol et l'aldéhyde benzoïque, nous avons étudié l'influence des concentrations respectives de la solution, du réactif et de l'acidité sur l'intensité de la coloration. En outre, pour l'aldéhyde benzoïque, nous avons fait une application de cette méthode à son dosage dans l'eau distillée de Laurier-Cerise, procédé aussi sensible et beaucoup plus rapide que celui qui est indiqué par le Codex. Nous avons précisé dans chaque cas les limites de concentration pour lesquelles il existe une proportionnalité de teinte.

Une étude similaire a été effectuée pour la vanilline, et l'expérience nous a montré qu'on pouvait appliquer cette technique à un dosage de cet aldéhyde dans les préparations commerciales qui en contiennent.

Nous avons procédé de la même façon au cours des travaux se rapportant aux autres aldéhydes en définissant en outre, pour chacun d'eux, les conditions de solubilité de la teinte obtenue, tant en milieu acide qu'en milieu ammoniacal, en vue d'une application à leur diagnose.

Vu :

Le Doyen,

G. PORTMANN.

Vu, bon à imprimer :

Le Président,

R. CASTAGNOU.

Vu et permis d'imprimer :

Bordeaux, le 24 Juillet 1952.

Le Recteur,

E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

Denigès. — Théorie et modification rationnelle de la réaction de Malaquin pour la caractérisation de la strychnine. *Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux,* 1911, t. 51, p. 145; *Bull. Soc. Chim. France,* 1911, 4e série, t. 9, p. 537.

— Recherche rapide des nitrates et nitrites dans les eaux, à l'aide d'un nouveau réactif hydrostrychnique. *Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux,* 1911, t. 51, p. 204; *Bull. Soc. Chim. France,* 1911, 4e série, t. 9, p. 544.

— Sur la nature des cristaux formés dans l'hydruration de la strychnine par l'acide chlorhydrique et le zinc. *Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux,* 1912, t. 52, p. 145.

— Sur la préparation du réactif hydrostrychnique et sur le dosage colorimétrique des nitrates des eaux par son emploi. *Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux,* 1914, t. 54, p. 97.

— Sur la conservation du réactif hydrostrychnique. *Ibid.,* 1941, t. 79, p. 5.

Castagnou (R.), Cazaux (P.) & Paul (M.). — Sur une réaction colorée : formol - réactif hydrostrychnique de Denigès. *Ibid.,* 1951, t. 89, p. 26.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 3

CHAPITRE PREMIER. — LE RÉACTIF HYDROSTRYCHNIQUE : COURBE DE NEUTRALISATION, ÉTUDE CHROMATOGRAPHIQUE 7

Etude des variations de *p*H 7

Etude chromatographique 9

CHAPITRE II. — RÉACTIF HYDROSTRYCHNIQUE ET OXYDANTS 12

I. — Etude du réactif sur l'intensité de la teinte 12

II. — Influence de la quantité de réactif 13

III. — Influence de l'acidité du milieu 15

IV. — Influence de la nature du réactif 16

V. — Influence du temps sur l'intensité de la réaction. . . 17

VI. — Etude comparative des différents systèmes oxydants vis-à-vis de l'intensité de la réaction 18

VII. — Limite de sensibilité 22

CHAPITRE III. — ALDÉHYDES ET RÉACTIF HYDROSTRYCHNIQUE. . . 24

I. — Le formol 26

II. — Aldéhyde benzoïque 28

III. — La vanilline 33

IV. — Aldéhydes divers 34

CONCLUSIONS 41

BIBLIOGRAPHIE 45

Bordeaux. — Imp. E. DROUILLARD, place de la Victoire, 3.